



## 血液細胞の分化を制御する転写因子GATA1の遺伝子発現制御機構の解明

著者	高井 淳
号	83
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	医博第3253号
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10097/58106">http://hdl.handle.net/10097/58106</a>

氏 名	たかい じゅん 高井 淳
学位の種類	博士(医学)
学位授与年月日	平成26年3月26日
学位授与の条件	学位規則第4条第1項
研究科専攻	東北大学大学院医学系研究科(博士課程)医科学専攻
学位論文題目	血液細胞の分化を制御する転写因子 GATA1 の遺伝子発現制御機構の解明
論文審査委員	主査 教授 山本 雅之 教授 田邊 修 教授 峯岸 直子

## 論文内容要旨

血液中には赤血球、血小板、リンパ球、顆粒球などの細胞が存在し、これらの細胞が生体の恒常性維持に貢献している。このような血液細胞の分化は、造血幹細胞や造血前駆細胞が、適切なバランスで分化することで維持されている。しかしながら、細胞の分化メカニズムについては不明な点が多い。GATA1はDNA上のGATA(ガタ配列)を認識する転写因子で、赤血球、巨核球、好酸球、肥満細胞、樹状細胞に特異的に発現し、これら血液細胞の分化を制御する。GATA1は、造血幹細胞では遺伝子発現レベルで抑制されているが、活性化することで赤血球を含む骨髄球系血球分化を誘導する。従って、*Gata1* 遺伝子の発現制御機構を解明することが、細胞の分化メカニズムの理解につながると考えられる。これまでの解析から、GATA1の発現には血球特異的な転写開始点の上流3.9kbに存在する *Gata1* hematopoietic enhancer (G1HE)、上流0.7kbに存在する double GATA 配列(dbG)と上流0.2kbに存在する CACCC 配列が重要であることがわかっていたが、これらを含む GdC 領域(3.7kb)全体の必要性や十分性、または血球分化段階特異的な機能貢献は未解明である。2009年に196kbの大腸菌人工染色体(bacterial artificial chromosome; BAC)の *Gata1* 遺伝子座に GFP を挿入したトランスジェニックマウス(*Gata1* BAC GFP; G1B-GFP)が樹立された。この G1B-GFP マウスの GFP 発現は内在性の GATA1 発現をほぼ完全に再現し、トランスジーンが発現が挿入部位による位置効果を受けず、安定して発現することが分かっている。今回、私は G1HE、dbG、CACCC の3つを含む 3.7kb の GdC 領域の必要性や十分性を G1B-GFP マウスを用いて解析することにした。

G1B-GFP から GdC 領域を欠失させたトランスジェニックマウスを作製して解析した結果、血液細胞での GFP 発現は完全に消失した。そこに、G1HE、dbG、CACCC の3領域を挿入したトランスジェニックマウスを作製して解析した結果、血液細胞での GFP 発現が回復した。従って、GdC 領域の G1HE、dbG、CACCC の3領域は、血液細胞における *Gata1* 遺伝子の発現活性化に必須であることが明らかとなった。一方で、GdC 領域中の G1HE、dbG、CACCC 以外の領域を G1B-GFP から欠失させると、造血幹細胞において DNA メチル化減少を伴う GFP 発現の増加が見られた。造血幹細胞様の性質を持つ細胞株(A6細胞)を用いて、DNA メチル化を維持する Dnmt1 のクロマチン免疫沈降を行った結果、G1HE-dbG 間に Dnmt1 が結合することが示された。従って、GdC 領域には Dnmt1 が結合し、*Gata1* 遺伝子座の DNA メチル化を維持することにより、造血幹細胞における GATA1 の遺伝子発現を抑制する機能があると考えられた。

## 審査結果の要旨

博士論文題目 血液細胞の分化を制御する転写因子 GATA1 の遺伝子発現制御機構の解明

所属専攻・分野名 医科学専攻・医化学分野

氏名 高井 淳

我々の生体には、自己複製能と多分化能を持つ造血幹細胞が存在し、この造血幹細胞が適切なバランスで血液細胞に分化することで生体は維持されている。血液細胞の分化機構の破綻は、白血病などの血液疾患を引き起こす。従って、血液細胞の分化機序を理解することは生体の恒常性の理解だけでなく、病態の解明や治療法の開発につながる可能性がある。GATA1 は赤血球・巨核球の分化を統合的に制御するマスター転写因子として知られている。GATA1 の機能は主に転写レベルで量的に制御されているが、その転写制御メカニズムに関しては不明な点が多い。本学位論文では、トランスジェニックマウスや培養細胞を用い、造血幹・前駆細胞における *Gata1* 遺伝子の発現制御機構について検討を行ったものである。

### 方法・結果：

本学位論文では、*Gata1* 遺伝子の制御領域下に GFP 遺伝子を挿入した遺伝子改変マウスと、それに変異を導入したマウスを用いて、マウス個体レベルでの *Gata1* 遺伝子の発現制御機構について解析を行った。その結果、*Gata1* 遺伝子座の上流にある 3.4kb の GdC 領域に、血液細胞の分化段階に応じて *Gata1* 遺伝子発現を正または負に制御する機能があることを発見した。また、造血幹・前駆細胞では GdC 領域に DNA methyltransferase (cytosine-5) 1 (Dnmt1) がリクルートされ、*Gata1* 遺伝子座の DNA メチル化状態を維持することが示された。さらに、DNA メチル化により GATA1 の活性化因子である GATA2 の結合が阻害され、*Gata1* 遺伝子発現を抑制する機構が存在することが考えられた。

以上の結果は本学位論文が、造血幹細胞では *Gata1* 遺伝子発現が DNA メチル化により抑制され、造血幹細胞からの赤血球・巨核球分化過程では、DNA 脱メチル化により *Gata1* 遺伝子発現が誘導されることを示している。GATA1 は赤血球・巨核球分化の鍵因子であり、造血幹細胞の未分化性維持のためには *Gata1* 遺伝子発現の適切な抑制が必須である。一方、DNA メチル化阻害剤は白血病の治療薬として使われており、投与時には白血病幹細胞での *Gata1* 遺伝子発現誘導が伴うと予測される。従って、DNA 脱メチル化による *Gata1* 遺伝子発現活性化と、それに引き続く血球分化過程の分子メカニズムに着目することで、新たな血液疾患の治療法開発への道が開ける可能性があり、本学位論文の知見は臨床的にも大変興味深い。

よって、本論文は博士（医学）の学位論文として合格と認める。